

PHENOLIC COMPOUND FROM THE STEM BARK OF MANGGIS HUTAN (*Garcinia bancana* Miq.) AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY

Senyawa Fenol dari Kulit Batang Manggis Hutan (Garcinia bancana Miq.) dan Aktivitas Antioksidannya

Muharni^{1*}, Supriyatna², Husein H. Bahti³, and Dachriyanus⁴

¹Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University, Ogan Ilir, Sumatera Selatan

²Faculty of Pharmacy, Padjadjaran University, Jatinangor, Sumedang, Indonesia

³Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padjadjaran University, Jatinangor, Sumedang

⁴Department of Pharmacy, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Andalas University, Limau Manis, Padang

Received August 2, 2008; Accepted November 1, 2008

ABSTRACT

A phenolic compound, (-)-epicatechin, was isolated from the stem bark of *Garcinia bancana*. The structure of this compound was determined based on spectroscopic data such as including UV, IR, 1-D, 2-D NMR, and comparison with the reported data. Biological activity of this compound at free radical scavenging activity by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) and inhibitory xanthine oxidase (XO) activity showed that (-)-epicatechin active at two methods with IC_{50} value 8.1 and 8.6 $\mu\text{g/mL}$ respectively.

Keywords: phenolic, (-)-epicatechin, *Garcinia bancana*, DPPH, XO

PENDAHULUAN

Garcinia merupakan genus dari famili *Guttiferae* dengan jumlah spesies besar, dan di Indonesia dikenal dengan nama manggis-manggis. Kajian fitokimia dari genus *Garcinia* menunjukkan bahwa genus ini kaya dengan senyawa fenol golongan santon, benzofenon, dan flavonoid [1,2]. Golongan senyawa-senyawa ini diketahui memiliki aktivitas biologi yang beraneka ragam seperti antioksidan, antimikroba, sitotoksik dan antimalaria [3,4]. Beberapa senyawa antioksidan yang ditemukan dari genus ini menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa antioksidan standar yang telah dikenal seperti asam askorbat, α -tokoferol, butil hidroksi anisol (BHA) dan butil hidroksi toluen (BHT). Di antaranya fukugetin, gambogenon, dan santosmol dari *G. xanthochymus* [4] serta fukugesida dari *G. dulcis* [5]. Salah satu spesiesnya adalah *Garcinia bancana* dan di Indonesia dikenal dengan nama manggis hutan [6]. Studi kandungan kimia dari *G. bancana* telah dilaporkan dari daun dan ranting *G. bancana* ditemukan senyawa golongan bifenil, benzofenon, kumarin, flavonoid, triterpenoid, dan steroid dan dua diantaranya yaitu golongan bifenil dan benzofenon menunjukkan aktif antibakteri [7]. Dalam penelitian berkelanjutan untuk mencari senyawa aktif biologi, telah dilakukan ekstraksi terhadap kulit batang *G. bancana*. Pada tulisan ini akan dilaporkan isolasi dan elusidasi struktur senyawa fenol yang berhasil diisolasi

dari ekstrak metanol kulit batang *G. bancana*, serta aktivitas antioksidannya terhadap peredaman radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) [8] dan dalam penghambatan aktivitas enzim santin oksidase (XO) [9].

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan tumbuhan berupa kulit batang *G. bancana* dikumpulkan dari Hutan Sarasah Bonta Payakumbuh, Sumatera Barat pada bulan April 2006. Spesimen tumbuhan ini telah diidentifikasi di Herbarium ANDA, Universitas Andalas Padang. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari : *n*-heksan, etil asetat, diklorometan, metanol, silika gel Merck 60 GF₂₅₄ (230-400 mesh), silika gel Merck 60 G (70-230 Mesh), plat aluminium berlapis silika gel Merck 60 GF₂₅₄, 0,25 mm, 20 x 20 cm. Reagen untuk uji antioksidan terdiri dari bufer posfat, dimetilsulfoksida (DMSO), DPPH, santin oksidase (XO), santin (XH), dan sodium dodesilsulfat (SDS).

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa alat gelas dan perangkat instrumentasi yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik Bahan

* Corresponding author. Tel : +62-81532795654
Fax : +62-711-580056; Email address : muharnimyd@yahoo.co.id

Alam, spektrofotometer UV Beckman DU-700, spektrofotometer Shimadzu FTIR 8400, spektrometer NMR JEOL JNM ECA-500 yang bekerja pada 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C), LCMS, dan spektrofotometer UV-vis, *micro melting point apparatus*, dan polarimeter.

Prosedur Kerja

Ekstraksi dan isolasi

Serbuk kulit batang *G. bancana* (3 Kg) dimaserasi berturut-turut dengan *n*-heksana, diklorometana dan metanol masing-masing diulangi sebanyak 3 x 5 L masing-masing selama 3 hari. Maserat yang diperoleh dipisahkan pada tekanan rendah menggunakan *rotary evaporator*, dan selanjutnya terhadap masing-masing ekstrak dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Terhadap ekstrak yang menunjukkan aktivitas paling tinggi yaitu ekstrak metanol, selanjutnya dilakukan pemisahan dan pemurnian.

Ekstrak MeOH (30 g), dipisahkan dengan kolom vakum cair (KVC). Sampel disiapkan secara preadsorpsi, dimasukkan ke dalam kolom (adsorben silika gel 230-400 Mesh), secara merata dan dielusi menggunakan eluen secara bergradien (*n*-heksan, campuran *n*-heksan-EtOAc = 9:1~6:4, dan EtOAc). Hasil kromatografi kolom ditampung dengan botol dan dianalisis dengan KLT dengan penampak noda lampu UV. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, dipisahkan, dan diperoleh lima fraksi gabungan F1-F5. Fraksi dengan pola noda yang bagus dan berfluorisensi selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan.

Pemisahan fraksi F2 dilanjutkan menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan fasa diam silika gel (70-230 Mesh), eluen bergradien (*n*-heksan, campuran *n*-heksan-EtOAc = 9:1~7:3, dan EtOAc). Hasil kromatografi ditampung dengan vial (volume kira-kira 10 mL) dan di KLT. Eluat dengan pola noda yang sama digabung menjadi satu fraksi, dan dari hasil penggabungan didapatkan empat fraksi F2.1-F2.4. Fraksi F2.1 dimurnikan dengan teknik KKG, didapatkan tiga fraksi F2.1.1-F2.1.3 dan dari fraksi F2.1.2 didapatkan senyawa murni berupa kristal putih.

Karakterisasi dan penentuan struktur senyawa hasil isolasi

Terhadap senyawa murni dilakukan penentuan sifat fisika meliputi titik leleh (t.l) dan putaran optik serta penentuan struktur molekul dengan metode spektroskopi meliputi UV, IR, NMR 1D (^1H NMR, ^{13}C NMR, dan DEPT), dan NMR 2D (HMQC, HMBC, dan COSY).

Uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa hasil isolasi

Uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa hasil isolasi dilakukan dengan dua metode yaitu metode DPPH [8] dan metode santin oksidase (XO) [9].

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH [8]

Larutan DPPH 0,05 mM disiapkan dalam MeOH, dan larutan sampel dibuat dengan melarutkan sampel uji dalam DMSO dengan berbagai konsentrasi (200, 100, 50, 25, 12,5, dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$). Sebanyak 0,2 mL larutan sampel ditambah 3,8 mL larutan DPPH 0,05 mM. Campuran larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-vis pada λ_{maks} 517 nm. Sebagai standar antioksidan digunakan α -tokoferol dengan konsentrasi perlakuan yang sama seperti sampel. Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumusan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times 100 \quad (1)$$

A_k = Absorban kontrol

A_s = Absorban sampel

Uji antioksidan dengan metode XO [9]

Sebanyak 100 μL berbagai konsentrasi cuplikan dengan berbagai konsentrasi (200, 100, 50, 25, 12,5, dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$) ditambahkan pada 100 μL larutan santin oksidase 1 unit/mL. Campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Setelah inkubasi, 500 μL substrat santin 0,5 x 10⁻² M ditambahkan kedalam campuran tersebut dan diinkubasi kembali selama 20 menit pada suhu kamar, kemudian reaksi dihentikan dengan menambahkan 500 μL SDS 69 mM.

Dengan cara yang sama juga disiapkan larutan antioksidan standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA) sebagai pembandingan. Larutan uji diukur pada λ_{maks} 290 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Persen penghambatan aktivitas XO dinyatakan sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambat Aktivitas} = \left(1 - \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0} \right) \times 100 \quad (2)$$

P_0 = Absorbansi blanko

P_1 = Absorbansi kontrol

P_2 = Absorbansi sampel

Komposisi reagen pengujian antioksidan dengan metode XO tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi reagen pengujian aktivitas antioksidan dengan metode XO

Kuvet	Sampel (μL)	XO (μL)	XH (μL)	SDS (μL)	DMSO (μL)	Buffer (μL)
P ₀	-	-	500	500	100	1900
P ₁	-	100	500	500	100	1800
P ₂	100	100	500	500	-	1800

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan dan pemurnian senyawa fenol dari ekstrak metanol kulit batang *G. bancana*

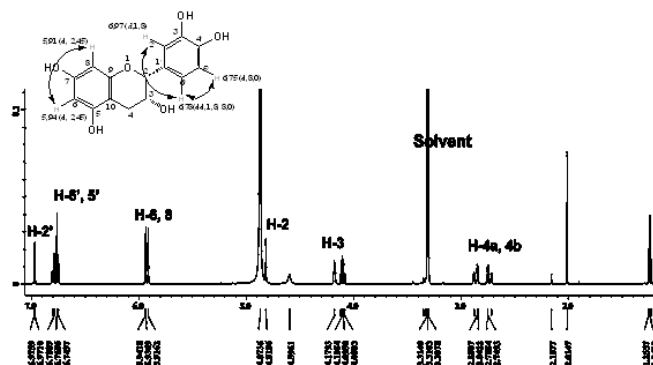
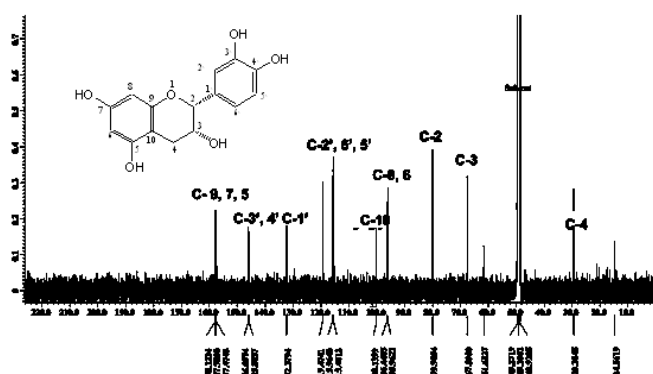
Serbuk kering kulit batang *G. bancana* (3 kg) diekstraksi berturut-turut dengan *n*-heksan, diklorometan, dan metanol, dan setelah dipekatkan didapatkan ekstrak *n*-heksan (30 g), diklorometan (55 g), dan metanol (30 g).

Pengujian antioksidan terhadap ekstrak dilakukan dengan metode DPPH, berdasarkan pada hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi (%) pada λ_{maks} 517 nm. Ekstrak *n*-heksan, diklorometan, dan ekstrak metanol dari kulit batang *G. bancana* memberikan nilai aktivitas antioksidan dengan %I berturut-turut 53, 73, dan 76%, sedangkan α -Tokoferol yang digunakan sebagai standar memberikan inhibisi 64%. Berdasarkan data ini terlihat bahwa ekstrak metanol dari kulit batang *G. bancana* menunjukkan aktivitas paling tinggi dibandingkan ekstrak lainnya dan lebih tinggi dibandingkan standar yang digunakan, sehingga pengerjaan selanjutnya dilakukan terhadap ekstrak metanol dari *G. bancana*. Pemisahan dan pemurnian ekstrak dari metanol diperoleh suatu senyawa murni berupa kristal putih (12 mg).

Karakterisasi dan penentuan struktur senyawa hasil isolasi

Senyawa hasil isolasi berupa kristal putih dengan t.l. 240-242 °C dan $[\alpha]_D^{20}$ -68° (c 1,0, MeOH). Struktur molekul senyawa hasil isolasi ditetapkan berdasarkan data spektroskopi, yang meliputi UV, IR dan NMR 1-D dan 2-D, serta dengan perbandingan data yang sama dengan yang telah dilaporkan sebelumnya. Spektrum UV (MeOH) menunjukkan serapan maksimum pada λ_{maks} (log ϵ) nm: 206 (5,64), 230 (4,97), dan 280 (4,54) yang mengalami pergeseran batokromik dengan penambahan pereaksi geser NaOH dengan λ_{maks} (log ϵ) nm 206 (5,64), 243 (5,03), dan 289 (4,64) yang mengindikasikan adanya kromofor fenolik. Spektrum IR (KBr) menunjukkan adanya pita-pita serapan (ν_{maks} cm⁻¹) untuk gugus hidroksil (3413), C=C aromatik (1624, 1519 dan 1442) dan C-O eter (1145). Data spektrum UV dan IR memperlihatkan ciri khas senyawa golongan flavonoid dengan inti flavan [10].

Pembuktian lebih lanjut untuk struktur senyawa hasil isolasi diperoleh berdasarkan hasil analisa data ¹H

**Gambar 1.** Spektrum ¹H NMR (-)-epikatekin**Gambar 2.** Spektrum ¹³C NMR (-)-epikatekin

NMR dan ¹³C NMR (metanol-*d*₄) δ ppm pada Tabel 2. Analisis data ¹H NMR (Gambar 1) dan ¹³C NMR (Gambar 2) dalam metanol-*d*₄ menunjukkan sinyal pada δ_H 2,74 (H-4a) dan 2,85 (H-4b) masing-masing (1H, *dd*, *J* = 4,25 Hz), merupakan sinyal untuk dua proton dari gugus metilen yang terkopling dengan proton pada δ_H 4,18 (H-3, *t*) dan juga diduga mengalami kopling geminal. Namun nilai *J* untuk kopling geminal dari dua proton C-4 dan *J* untuk proton pada 4,18 (H-3, *t*) tak dapat dihitung karena nilai pergeseran kimia masing-masing puncak ada yang tidak keluar. Sinyal pada δ_H 4,82 (1H, *s*) dan 4,18 (1H, *t*) merupakan sinyal untuk dua proton metin dari C-2 dan C-3 yang diduga berada pada kedudukan *cis* aksial-ekuatorial. Sinyal pada δ_H 5,91 dan 5,94 masing-masing (1H, *d*, *J* = 2,45 Hz) merupakan dua proton aromatik yang terkopling *meta*. Sinyal pada 6,78 (1H, *dd*, *J* = 1,8 dan 8,0 Hz), merupakan sinyal dari proton aromatik yang terkopling *orto* dan *meta* dengan proton pada 6,75 (1H, *d*, *J* = 8,0 Hz) dan δ_H 6,97 (1H, *d*, *J* =

1,8 Hz) dari cincin benzena yang mengalami trisubstitusi. Kelima sinyal proton aromatik ini sangat mencirikan bahwa senyawa isolasi merupakan kelompok flavonoid dengan inti flavan.

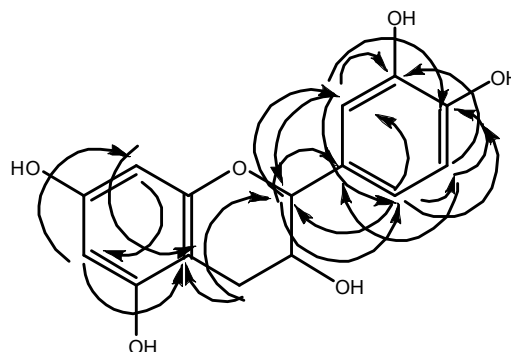
Spektrum ^{13}C NMR menunjukkan adanya 17 sinyal karbon. Berdasarkan data spektrum DEPT, HMQC, dan HMBC ternyata senyawa hasil isolasi memiliki 15 buah karbon. Jadi terdapat dua sinyal karbon sebagai pengotor pada spektrum ^{13}C NMR. Dari 15 sinyal tersebut 12 diantaranya adalah sinyal untuk karbon aromatik. Sinyal-sinyal ini khas untuk karbon dari senyawa golongan flavonoid tipe flavan. Hal ini juga didukung oleh tidak munculnya sinyal untuk C karbonil.

Pada Spektrum DEPT terlihat adanya satu sinyal metilen (CH_2) pada pergeseran kimia 29,4 (C-4), tujuh sinyal metin (CH) pada δ_{C} 67,6 (C-3); 80,0 (C-2); 96,0 (C-6); 96,4 (C-8); 119,5 (C-6); 116,0 (C-5); dan 115,4 ppm (C-2'), dan tujuh sinyal C kuartener pada δ_{C} 100,1 (C-10); 132,4 C-1); 145,9 (C-4); 146,1 C-3); 157,5 (C-5); 157,8 (C-7); dan 158,1 (C-9) ppm. Dari 15 sinyal ini 12 diantaranya adalah C sp^2 untuk sinyal C aromatik dan 3 sinyal adalah C sp^3 . Hal ini sangat memperkuat usulan senyawa hasil isolasi adalah golongan flavonoid dengan inti flavan.

Pembuktian lebih lanjut usulan struktur senyawa hasil isolasi diperkuat oleh analisis data NMR 2-D. Dari spektrum HMQC diketahui bahwa proton pada δ_{H} 4,81 (H-2) terikat pada δ_{C} 79,7 dan pada spektrum HMBC ditunjukkan adanya korelasi tiga ikatan dengan karbon δ_{C} 119,5 (C-6) dan δ_{C} 115,4 (C-2') dan lewat dua ikatan

dengan karbon pada δ_{C} 132,4 (C-1'), sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-2. Pada spektrum HMBC juga terlihat korelasi antara proton pada δ_{H} 2,75 (H-4a) dan proton pada δ_{H} 2,85 (H-4b) dengan karbon pada δ_{C} 80,0 (C-2) dan δ_{C} 100,1 (C-10), sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-4.

Pada spektrum COSY terlihat proton pada δ_{H} 2,75 (H-4a) dan proton pada δ_{H} 2,85 (H-4b) bertetangga dengan proton pada 4,18 (H-3), sehingga muncul sebagai sinyal doublet-doublet. Selain itu proton pada δ_{H} 6,78 (H-6) pada spektrum HMQC terlihat terikat pada δ_{C} 119,5 (C-2), berkorelasi dengan karbon pada 79,7 (C-2), 145,9 (C-4'), dan 116,0 (C-5) sehingga proton ini ditempatkan pada posisi C-6'. Proton pada δ_{H} 6,75 (H-5) pada spektrum HMBC berkorelasi dengan karbon pada δ_{C} 132,4 (C-1'), 146,1 (C-3') dan 145,9 (C-4'), sedangkan proton pada 6,97



Gambar 3. Korelasi HMBC (-)-epikatekin

Tabel 2. Data geseran kimia proton dan karbon dari spektrum ^1H dan ^{13}C NMR dan korelasi NMR 2D senyawa hasil isolasi (A) pada 500 MHz untuk ^1H dan 125 MHz untuk ^{13}C , dalam metanol- d_4 serta data (-)-epikatekin (A') pembandingan

Posisi	δ_{H} (ppm), integrasi, multiplisitas, J (Hz)	δ_{C} (ppm)		DEPT	HMBC	COSY
	A	A	A*	A	A	A
2	4,82 (1H, s)	80,0	78,1	CH	C-1', C-2', C-6	H-3
3	4,18 (1H, t)	67,6	65,1	CH		H-2, H-4
4	2,74 (1H, dd, 4,25) 2,85 (1H, dd, 4,25)	29,4	28,0	CH_2	C-2, C-10	H-3, H-4
5		157,5	156,4	C		
6	5,94 (1H, d, 2,45)	96,0	95,6	CH	C-8, C-10	H-8
7		157,8	156,3	C		
8	5,91 (1H, d, 2,45)	96,4	94,5	CH	C-6, C-10	H-6
9		158,1	155,7	C		
10		100,1	98,8	C		
1'		132,4	130,7	C		
2'	6,97 (1H, d, 1,8)	115,4	118,1	CH	C-2, C-3', C-4', C-6	H-6'
3'		146,1	144,6	C		
4'		145,9	144,5	C		
5'	6,75 (1H, d, 8,0)	116,0	115,0	CH	C-1', C-3', C-4'	H-6'
6'	6,78 (1H, dd, 1,8; 8,0)	119,5	118,1	CH	C-2, C-5, C-4'	H-2', H-5'

*[10]

(C-2') berkorelasi dengan karbon pada 80,0 (C-2), 146,1 (C-3'), 145,9 (C-4'), dan 119,5 (C-6') sehingga proton ini ditempatkan berturut-turut pada posisi C-5' dan C-2'. Proton pada δ_H 5,93 (H-6) dan 5,91 (H-8) masing-masing (1H, *d*, *J* = 2,45) pada spektrum HMBC terlihat berkorelasi tiga ikatan dengan karbon 100,1 (C-10) sehingga kedua proton ini ditempatkan pada posisi C-6 dan C-8. Hubungan antara proton dengan karbon tetangganya yang berjarak dua dan tiga ikatan dari spektrum HMBC dapat diperlihatkan pada Gambar 3.

Data NMR senyawa hasil isolasi (**A**) memperlihatkan kesesuaian parameter dengan data (-)-epikatekin (**A***) yang telah dilaporkan seperti terlihat pada Tabel 2 [10]. Namun terdapat sedikit perbedaan, karena senyawa hasil isolasi diukur dalam metanol-*d*₄ sedangkan (-)-epikatekin pembanding diukur dalam DMSO-*d*₆. Selain itu juga terdapat kesesuaian parameter sifat fisika titik leleh dan putaran optiknya, dimana senyawa hasil isolasi memberikan t.l 240-242 °C dan putaran optik $[\alpha]_D$ -68° (c 1,0; MeOH) sedangkan (-)-epikatekin t.l 242°C dan putaran optik $[\alpha]_D$ -68° (EtOH).

Berdasarkan data ini maka disimpulkan senyawa hasil isolasi adalah (-)-epikatekin. Senyawa ini untuk pertama kalinya diisolasi dari *G. bancana*, namun telah ditemukan sebelumnya dari spesies lain yaitu dari *G. dulcis* [5].

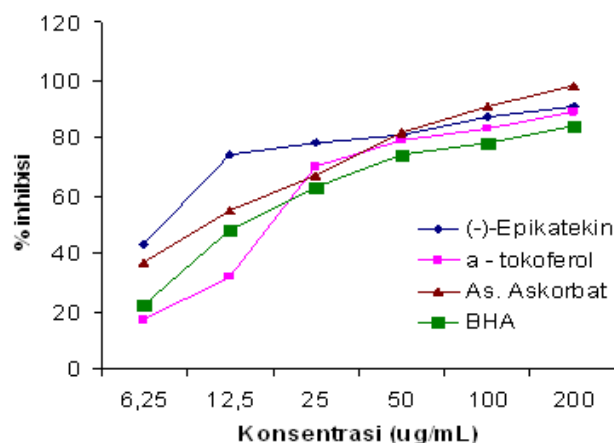
Aktivitas antioksidan senyawa hasil isolasi

Senyawa antioksidan dapat bekerja melalui satu mekanisme atau lebih. Aktivitas antioksidan senyawa hasil isolasi ditentukan berdasarkan sifatnya sebagai peredam radikal bebas dan sebagai penghambat kerja enzim. Sebagai peredam radikal bebas ditentukan dengan metode DPPH berdasarkan kemampuannya meredam radikal DPPH. Dalam penghambatan kerja enzim ditentukan dengan metode XO melalui mekanisme penghambatan kerja enzim santin oksidase dalam pembentukan asam urat.

Aktivitas peredaman radikal DPPH

Aktivitas peredaman radikal DPPH dari zat antioksidan didasarkan pada kemampuan dari zat antioksidan dalam menetralkan radikal DPPH, dengan menyumbangkan protonnya sehingga membentuk radikal yang lebih stabil. Hubungan aktivitas peredaman radikal DPPH dari senyawa hasil isolasi dan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, BHA) pada berbagai variasi konsentrasi (200, 100, 50, 25, 12,5, dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$) yang dinyatakan dalam % inhibisi dapat dilihat pada Gambar 4.

Pada Gambar 4 terlihat senyawa hasil isolasi (-)-epikatekin dan senyawa antioksidan standar mempunyai aktivitas peredaman (% inhibisi) dengan kekuatan yang



Gambar 4. Aktivitas peredaman radikal DPPH (% inhibisi) dari (-)-epikatekin dan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA) pada berbagai variasi konsentrasi.

Tabel 3. Nilai IC_{50} dari (-)-epikatekin hasil isolasi dan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA) dengan metode DPPH

Senyawa uji	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
(-)-Epikatekin	8,1
α -Tokoferol	18,2
Asam askorbat	10,6
BHA	17,6

berbeda. Peningkatan konsentrasi senyawa uji meningkatkan nilai % inhibisi terhadap radikal DPPH. Pada konsentrasi yang sama (-)-epikatekin, cenderung mempunyai aktivitas lebih tinggi dibandingkan senyawa antioksidan standar α -tokoferol dan BHA, dan setara dengan standar asam askorbat. (-)-Epikatekin telah dikenal sebagai senyawa antioksidan dengan aktivitas tinggi dengan IC_{50} 8,5 μM yang ditemukan dari *G. dulcis* [5].

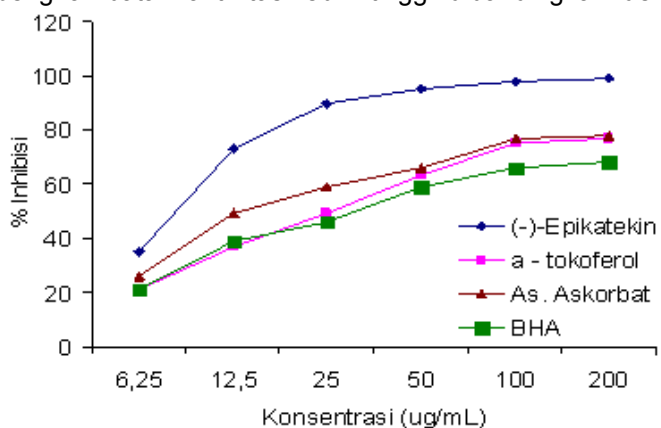
Efektivitas peredaman radikal DPPH ditentukan dengan menghitung nilai IC_{50} melalui perhitungan regresi linear, yaitu konsentrasi dari senyawa uji yang dapat meredam 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} dari senyawa hasil isolasi dan senyawa antioksidan standar terhadap peredaman radikal DPPH ditunjukkan pada Tabel 3.

Berdasarkan standar tingkat aktivitas antioksidan yang dikemukakan [11], senyawa yang termasuk kategori sangat aktif memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kategori aktif bila memiliki nilai $IC_{50} 10-100 \mu\text{g/mL}$, dan nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ dikategorikan tidak aktif. Berdasarkan kategori ini maka (-)-epikatekin dikategorikan bersifat sangat aktif dengan IC_{50} 8,1 $\mu\text{g/mL}$. (-)-Epikatekin untuk pertama kalinya diisolasi dari kulit batang *G. bancana*. Hal ini menunjukkan bahwa kulit batang *G. bancana* merupakan sumber senyawa antioksidan yang potensial.

Penghambatan aktivitas enzim santin oksidase (XO)

Enzim santin oksidase (XO) adalah enzim yang mengkatalis oksidasi santin menjadi asam urat yang menimbulkan penyakit persendian. Reaksi oksidasi santin ini juga menghasilkan radikal anion superoksida ($O_2^{\cdot -}$). Pengukuran penghambatan kerja enzim XO dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur jumlah asam urat yang terbentuk pada λ_{maks} 290 nm dan dinyatakan dalam % penghambatan aktivitas. Penghambatan aktivitas XO oleh zat antioksidan didasarkan pada kemampuan zat antioksidan menghambat terjadinya proses oksidasi dari substrat santin (SH) melalui persaingan reaksi sehingga yang teroksidasi adalah senyawa antioksidannya. Hubungan penghambatan aktivitas enzim santin oksidase dari senyawa hasil isolasi dan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA) dengan konsentrasi (200, 100, 50, 25, 12,5, dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$) ditunjukkan pada Gambar 5.

Senyawa uji dan senyawa antioksidan standar mempunyai kemampuan menghambat aktivitas enzim santin oksidase, dan peningkatan konsentrasi senyawa uji akan meningkatkan penghambatan aktivitas enzim XO. Perbandingan aktivitas penghambatan kerja enzim santin oksidase pada konsentrasi yang sama terlihat bahwa (-)-epikatekin menunjukkan persen penghambatan aktivitas lebih tinggi dibandingkan de-



Gambar 5. Penghambatan aktivitas enzim santin oksidase (% inhibisi) dari senyawa hasil isolasi dan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA) pada berbagai variasi konsentrasi.

Tabel 4. Nilai IC_{50} dari (-)-epikatekin hasil isolasi dan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA) dengan metode XO

Senyawa uji	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
(-)-Epikatekin	8,6
α -Tokoferol	32,8
Asam askorbat	18,1
BHA	35,1

ngan senyawa standar (α -tokoferol, asam askorbat, dan BHA).

Untuk melihat efektivitas penghambatan aktivitas enzim santin oksidase dalam mengkatalis reaksi pembentukan asam urat dilakukan dengan menghitung nilai IC_{50} melalui perhitungan regresi linear, yaitu konsentrasi dari senyawa uji yang dapat menghambat 50% aktivitas santin oksidase atau penurunan pembentukan asam urat 50%. Harga IC_{50} dari senyawa hasil isolasi dan senyawa antioksidan standar terhadap penghambatan aktivitas enzim XO ditunjukkan pada Tabel 4.

Berdasarkan standar tingkat aktivitas antioksidan yang dikemukakan [11], terlihat bahwa senyawa hasil isolasi yaitu (-)-epikatekin aktivitas yang tinggi terhadap penghambatan kerja enzim XO dengan IC_{50} 8,6 $\mu\text{g/mL}$.

KESIMPULAN

Studi senyawa fenol dari kulit batang manggis hutan (*G. bancana*) berhasil diisolasi satu senyawa fenol tipe flavan yaitu (-)-epikatekin. Aktivitas antioksidannya juga telah diuji dengan metode DPPH dan metode XO dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan IC_{50} berturut-turut 8,1 dan 8,6 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan pada kepala staf LIPI Serpong yang telah membantu pengukuran spektrum ini dan juga kepada staf herbarium ANDA, Universitas Andalas, Padang yang telah mengidentifikasi sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Gopalakrishnan, G., and Banumathy, B., 2000. *Fitoterapia*, 71, 607-609.
- Lannang, A.M., Komguem, J., Ngninzeko, F.N., Tangmoua, J.G., Lonsti, D., Ajaz, A., Choudhary, M.I., Ranjit, R., Devkota, K.P., and Sondengam, B.L., 2005. *Phytochemistry*, 66, 2351-2355.
- Mackeen, M.M., Ali, A.M., Lajis, N.H., Kawazu, K., Hassan, Z., Amran, M., Hasbah, M., Mooi, L.Y., and Mohamed, S.M., 2000., *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 394-402.
- Baggett, S., Protiva, P., Mazzola, E.P., Yang, H., Ressler, E.T., Basile, M.J., Weinstein, I.B., and Kennelly, E.J., 2005, *J. Nat. Prod.*, 68, 354-360.
- Deachathai, S., Mahabusaracam, W., Phongpacichit, S., Taylor, W.C., Zhang, Y.J., and Yang, C.R., 2006, *Phytochemistry* 67, 464-469.

6. Heyne, K., 1987, *Tumbuhan berguna Indonesia*, Jilid III, Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya. Hal 1387
7. Rukachaisirikul, V., Naklue, W., Sukpondma, Y., and Phongpaichit, S., 2005, *Chem. Pharm. Bull.*, 53, 342-343.
8. Selvi, A.T, Joseph, G.S., and Jayaprakasha, G.K., 2003, *Food Microbiology*, 20, 455-460.
9. Degaulejac N.S.C., Provost, C., and Vivas, N., 1999, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 425-431.
10. Markham, K.R. and Ternai, B., 1976., *Tetrahedron*, 32, 2607-2612
11. Minami, H., Hamaguchi, K., Kubo, M., and Fukuyama, Y., 1998, *Phytochemistry*, 49, 6, 1783-1785.